

CONTENIDO

	Página
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
ÍNDICE DE TABLAS	vi
ABREVIATURAS	vii
RESUMEN	viii
 CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	 1
 CAPITULO II. ANTECEDENTES	 4
2.1. EL COCOTERO	4
2.1.1. TAXONOMIA DEL COCOTERO	4
2.1.2. MORFOLOGÍA DEL COCOTERO	4
2.1.2.1. Tallo	4
2.1.2.2. Raíz	5
2.1.2.3. Hojas	5
2.1.2.4. Flores	6
2.1.2.5. Fruto	7
2.1.3. VARIEDADES DEL COCOTERO	12
2.1.3.1. Cocoteros Altos	12
2.1.3.2. Cocoteros Enanos	13
2.1.3.3. Híbridos de cocotero	13
2.2. EL CULTIVO DEL COCOTERO	15
2.2.1. IMPORTANCIA ECONÓMICA DEL COCOTERO	15
2.2.2. PROBLEMÁTICA DEL COCOTERO: EL AMARILLAMIENTO LETAL	16
2.2.3. ALTERNATIVAS DE SOLUCIÓN	18
2.2.3.1. Aplicación de antibióticos a las palmas afectadas (quimioterapia)	18
2.2.3.2. Eliminación del vector de la enfermedad	19
2.2.3.3. Producción de palmas híbridas altamente resistentes a la enfermedad	19

	Página
2.2.3.4. Obtención de palmas de cocotero resistentes al Amarillamiento Letal genéticamente modificadas	19
2.3. TRANSFORMACIÓN GENÉTICA	23
2.3.1. GENERALIDADES	23
2.3.2 MÉTODOS DE TRANSFORMACIÓN GENÉTICA	24
2.3.2.1 Transformación por microinyección	25
2.3.2.2 Transformación por electroporación	25
2.3.2.3 Transformación por biobalística	26
2.3.2.4 Transformación por cocultivo de células o tejidos mediante <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	26
2.3.3 TRANSFORMACIÓN GENÉTICA MEDIADA POR <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	27
2.3.3.1 Biología de <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	27
2.3.3.2 <i>Agrobacterium tumefaciens</i> como vector de transformación	29
2.3.3.3 Genes reporteros	31
2.3.3.4 Gen <i>gfp</i>	33
CAPÍTULO III. OBJETIVOS	36
3.1 OBJETIVO GENERAL	36
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	36
CAPÍTULO IV. HIPÓTESIS	37
CAPÍTULO V. MÉTODOLOGÍA	38
5.1. MATERIAL VEGETAL	38
5.2 PLÁSMIDO pBIN19 _{CATgfp}	38
5.3. CEPAS BACTERIANAS	38
5.4. COCULTIVO CON <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	39
5.3.1 ACTIVACIÓN DE CEPAS BACTERIANAS	39
5.3.2 COCULTIVO DE CALLOS EMBRIOGÉNICOS	39

5.5. DETERMINACIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL GEN <i>gfp</i> MEDIANTE MICROSCOPIA DE FLUORESCENCIA	40
5.6. EXTRACCIÓN DE ADN	41
5.7. DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DEL GEN <i>gfp</i> MEDIANTE LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)	42
CAPÍTULO VI. RESULTADOS	44
6.1. EXPRESIÓN DEL GEN <i>gfp</i> EN CALLOS COCULTIVADOS CON <i>A. tumefaciens</i>	44
6.2. PRESENCIA DEL GEN <i>gfp</i> EN EXTRACTOS DE ADN DE CALLOS COCULTIVADOS CON <i>A. tumefaciens</i>	54
CAPÍTULO VII. DISCUSIONES	56
CAPÍTULO VIII. CONCLUSIONES	59
CAPÍTULO IX. PERSPECTIVAS	60
BIBLIOGRAFÍA	61

RESUMEN

Actualmente, el Amarillamiento Letal (AL) es la enfermedad más destructiva que afecta al cocotero y amenaza con acabar con los plantíos costeros del Golfo de México, Mar Caribe y Océano Pacífico de nuestro país. A pesar de los intentos de diversos grupos de investigación por generar palmas resistentes a la enfermedad mediante la técnica de hibridación, tales esfuerzos han sido aislados y en su mayoría generan individuos que difieren en sus características morfológicas y productivas al cultivo parental.

La transformación genética vegetal permite el mejoramiento genético del individuo, mediante la inserción de genes exógenos dentro del genoma de la planta. Aunque esta técnica no se ha usado para el mejoramiento genético de cocotero, se ha usado exitosamente en una gran variedad de cultivos vegetales confiriendo resistencia a patógenos y parásitos, aumentando su productividad, y mejorando el contenido nutricional de sus frutos, entre otras modificaciones.

Disponer de técnicas biotecnológicas tales como la transformación genética, un sistema de micropropagación vegetal eficiente y una caracterización completa del genoma del agente causal del Amarillamiento Letal, permitirían buscar alternativas novedosas para la solución de la problemática del cocotero.

En el presente trabajo se estableció un protocolo de transformación genética para callos embriogénicos de cocotero mediada por *Agrobacterium tumefaciens*, introduciendo el gen reportero *gfp* el cual codifica para la producción de la proteína verde fluorescente. Los resultados obtenidos indican que las células de los callos embriogénicos de cocotero fueron transformadas con éxito mediante el cocoltivo con *A. tumefaciens*.